

Latex Agglutinations-Test
zum Nachweis von
Kuhmilch - Antikörpern

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Heilkunde der
medizinischen Fakultät
der Universität Basel

GABRIEL CAHANSKY

aus Tel-Aviv /Israel

Basel im April 1965

E. + C. Spitteler, Offsetdruck, Basel

LATEX AGGLUTINATIONS - TEST
ZUM NACHWEIS VON KUHMITCH -
ANTIKÖRPERN

Aus dem serologischen Laboratorium (PROF. E. BERGER)
des Universitätskinderspitais Basel
(Direktor: PROF. DR. A. HOTTINGER)

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der gesamten Heilkunde der
medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

GABRIEL CAHANSKY

aus Tel-Aviv /Israel

Basel im April 1965

E. + C. Spitteler, Offsetdruck, Basel

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag
von PROFESSOR E. BERGER am 31. Mai 1965



Latex-Agglutination Test für Kuhmilch-Antikörper.

Die in den letzten Jahren durchgeführten Untersuchungen mit kommerziell hergestelltem Polystyren-Latex-Partikel-System bei serologischen Untersuchungsmethoden ergaben, dass es ausser anderen Indikatoren, oder "carriers", welche Antikörper-Antigen Reaktion in eine sichtbare Agglutination umwandeln, wie z. B. Erythrocyten von Mensch oder Schaf, Bentonit* und Collodium*, unter Umständen ein bevorzugtes Mittel sein kann.

Zweck dieser Arbeit ist die bisherige Haupt-Anwendung des Latex Partikel-Systems in der Serologie kurz wiederzugeben und unsere eigenen Untersuchungen und Ergebnisse mit dem Latex Agglutinationstest für Kuhmilch-Antikörper darzulegen.

Latex und seine Eigenschaften**

In Wasser aufgenommene Vinyl-Monomere werden durch geeignete freie Radikal-bildende Katalysatoren polymerisiert. Es werden kleine sphärische Polymeren, die den eigentlichen Latex-Partikeln entsprechen, als kolloidale Suspension hergestellt, die im Wasser mittels chemischer Emulgatoren stabilisiert wird. (Monodisperse Latex Partikel von uniformen Durchmesser - 0,1 bis 1,2 micron - werden von der chemischen Gesellschaft DOW hergestellt***).

Die Latex-Partikel sind, in ihrer dispersen Phase, in Wasser negativ geladen und scheinen lyophobe kolloidale Eigenschaften zu besitzen. Ihre Dispersionsstabilität ist durch ihre eigene Ladung und die des Mediums festgesetzt.

* Bozicevich, J., und Mitarb. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 97 : 180, 1958.
Bloch, K. J. und Mitarb. J. A. M. A. 169 : 307, 1959.
Zavazal, V., Ztschr. Rheumaforsch. 17 : 41, 1958.

** Ullmans Encyklopädie der technischen Chemie:
Polymerisate des Styrols, Band 14, S. 187, 1963.

*** Singer J. M. : Am. J. Med., 31 : 766 Nov. 1961.

Latex und seine Anwendung

Polystyren Latex Partikel wurden zuerst im Jahre 1956 von SINGER und PLOTZ (1) in die Serodiagnostik für "Rheumatoide Arthritis" eingeführt. In ihren Studien über das Latex Partikel-Agglutinationssystem (2, 3, 4,) haben sie die wesentlichen Mechanismen der Adsorption von menschlichem gamma-Globulin an Latex-Teilchen erforscht sowie dessen Reaktion mit "Rheumatoide Sera" weitgehend untersucht und analysiert. Dabei entwickelten sie eine Methode für serologisch diagnostische Zwecke in "Rheumatoide Arthritis", die sich mit nur geringen Modifikationen für die routinemässige Anwendung im Laboratorium als praktisch, empfindlich und spezifisch fast überall durchsetzte, und die sich auch bei nicht rheumatischen Seroreaktionen als sehr brauchbares und nützliches Verfahren erwies. (5, 6, 7, 8, 9, 10).

In Tabelle 1. sind 6 verschiedene, beliebig ausgewählte Anwendungen der Latex-Partikel-Suspension bei serologischen Untersuchungsmethoden wieder gegeben. Die Modifikationen, welche die einzelnen Untersuchungen in methodischer Hinsicht betreffen, sind gering in Bezug auf die Anwendungsbreite, was für uns wesentlich zu sein scheint, weil solche Eigenschaften für die Anwendungsmöglichkeit im Laboratorium sprechen. Dies waren die gedanklichen Voraussetzungen, das Verfahren für unsere Zwecke (s. u.) zu verwenden.

(Tabelle 1.)

Latex Agglutination Test für den Nachweis von Kuhmilch-Antikörper

Bei 87 Serum-Proben verschiedener Provenienz fahndeten wir nach Antikörpern gegen Kuhmilch mittels des Latex Agglutinations-Verfahrens. Von diesen 87 Seren wurden 36 Proben vergleichend mittels des Hämagglutinations-Tests geprüft. (Tabelle 2.).

Es wurde folgende Technik benutzt:

Material

1. Latex, Latex-Stammlösung:

Polystyren Latex Partikel-Suspension, von einheitlichem Partikel-Durchmesser, $0,81\mu$ (micron), wie es bei SINGER und PLOTZ für Serodiagnostik in "Rheumatoide Arthritis" be-

schrieben worden ist, wurde als Stammlösung benutzt. (Latex Partikel-Suspension, Partikel-Durchmesser 0,81 micron, 11% festes Material enthaltend, wurde zehnmal verdünnt und anschliessend durch Whatman'sches Filterpapier no. 40 filtriert. Das Filtrat sollte dicht genug sein, um bei weiterer Verdünnung auf 1 : 100 mit Boratpuffer im Spektrophotometer bei 650 nm. mit rotem Filter eine Licht-Transmission von 6% anzuzeigen. Hergestellt als Bacto-Latex 0,81, von DIFCO laboratories, Detroit 1. Michigan, U.S.A.,).

2. Pufferlösung:

Borat-puffer -pH 8,2- diente als Verdünnungsmittel für alle Testmaterialien. Zur 50,0 ml Borsäure (H_3BO_3) 0,1 Mol (6,184 gr. auf 1000 ml Aqua. dest.) wurden 5,9 ml 0,1 n NaOH zugesetzt und auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt. Es wurde genau auf pH 8,2 geeicht. Zu je 100 ml so erhaltener Pufferlösung wurden 0,85 gr. NaCl hinzugesetzt.

3. Antigen:

Als Antigen wurde frische Kuhmilch benützt, die auf 1 : 100 mit Borat-puffer verdünnt worden war. (0,1 ml frische Kuhmilch mit 9,9 ml Borat-puffer).

4. Antigen-Latex Komplex:

Latex-Stammlösung wurde auf 1 : 100 mit Borat-puffer verdünnt, 0,1 ml davon wurde mit 9,9 ml Antigen (s. o.) vermischt.

5. Serum:

Die einzelnen Proben wurden von 87 Patienten verschiedener Provenienz entnommen. (Juli - September 1962, Kinderspital, Basel. Siehe Tabelle 2.).

Versuchsanordnung:

Es wurde eine Serum-Verdünnungsreihe, von 1 : 5 bis 1 : 1280 (9 Röhrchen), und ein Serum-Kontrollröhrchen hergestellt. Als Verdünnungsmedium wurde Latex-Stammlösung, mit Borat-puffer auf 1 : 200 verdünnt, benutzt. Dabei wurden in

das erste Röhrchen 8 Tropfen (20 Tropfen = 1 cc.) Verdünnungsmedium, in das zweite bis neunte sowie in das Serum-Kontrollröhrchen je 4 Tropfen gegeben. Dann wurde dem ersten Röhrchen 2 Tropfen Serum hinzugefügt, und von dem Gemisch 4 Tropfen in das zweite Röhrchen überpipettiert und 2 Tropfen verworfen. Vom zweiten Röhrchen wurden 4 Tropfen in das dritte überpipettiert usw. bis in das neunte Röhrchen, aus dem 4 Tropfen entnommen und entfernt wurden. In das Serum-Kontrollröhrchen wurde 1 Tropfen Serum gegeben, gut gemischt, und 1 Tropfen eliminiert. Anschliessend wurde in die Röhrchen 1 - 9 je 4 Tropfen Antigen-Latex Komplex gegeben, während das Serum-Kontrollröhrchen 4 Tropfen Latex-Stammlösung (auf 1 : 100 mit Borat-puffer verdünnt) enthielt.

Als Antigen-Kontrolle wurden weitere Röhrchen verwendet : in das erste Antigen-Kontrollröhrchen wurden 4 Tropfen Antigen-Latex Komplex mit 4 Tropfen Verdünnungsmedium (Latex-Stammlösung mit Borat-puffer auf 1 : 200 verdünnt) gegeben, in das zweite 4 Tropfen mit Borat-puffer auf 1 : 100 verdünnte Latex-Stammlösung und 4 Tropfen Borat-pufferlösung.
(Tabelle 3.).

Die Röhrchen wurden 30 min. in ein Wasserbad von 37° C. gestellt, dann bei 40° C. 2 Stunden aufbewahrt, anschliessend wiederum für die Dauer von 30 min. ins Wasserbad von 56° C. gestellt und dann über Nacht bei 37° C. im Brutschrank aufbewahrt. Am nächsten Tag wurde bei 2500 U. p. M. 3 min. lang zentrifugiert und mit blossen Auge abgelesen und die Resultate mit Hilfe des Agglutinokopes überprüft.
(Tabelle 2., Tabelle 3., Abb. 1.).

Resultate :

- * Ein positives Resultat erkennt man daran, dass die ursprünglich in den Röhrchen vorhandenen durch die Gegenwart von Latex und Milch verursachten Trübungen klar werden, wobei in mehr oder minder grosses Sediment entsteht.
- ** Von einem negativen Resultat sprechen wir, wenn die Latex-Serum Gemische keine Veränderungen zeigen bzw. wenn sie ihre ursprünglichen Trübungen behalten und keinen Niederschlag zeigen.
- *** Als Serum-Kontrolle lief immer eine 1 : 5 verdünnte Serumprobe mit, welche dem gleichen Volumen einer Latex Verdünnung von 1 : 200 versetzt war. Diese Serum-Proben durften keine Veränderungen und Bildung eines Bodensatzes zeigen.

87 Serum-Proben wurden auf Antikörper gegen Kuhmilch mittels Latex Agglutinations-Test untersucht. Positive Agglutination konnte in 46 Proben festgestellt werden (etwa 53%). Von den Seren waren 17 positiv in einer Verdünnung von 1 : 5, 14 in einer Dilution von 1 : 10, 8 in einer von 1 : 20, 5 in einer Titer von 1 : 40, und je 1 in einer Verdünnung von 1 : 80 bzw. 1 : 160.

26 Proben waren einwandfrei negativ; in 15 Fällen war das Resultat fraglich, Proben, die wir ebenfalls als negativ bezeichneten, womit eine gesamte Zahl von 41 negativen Proben resultierte. (etwa 47%).

39 dieser Seren wurden parallel mit der Hämagglutinations-Methode untersucht; in 18 Fällen war das Ergebnis übereinstimmend mit den positiven Agglutinations-Resultaten des Latex Verfahrens, wobei die beiden Verdünnungen nicht berücksichtigt wurden; bei den 18 Fällen war in 6 Proben Uebereinstimmung zu verzeichnen bei Verdünnungen, die über und bei 1 : 20 lagen. Das gleiche war der Fall in Verdünnungen, die unter 1 : 20 lagen bei weiteren 8 Seren; In den übrigen positiven Ergebnissen bestand keine Konkordanz (4 Fälle).

Bei den negativen Ergebnissen stimmten 9 untersuchte Seren überein; 8 ergaben negative Resultate beim Latex Agglutinations-Test, obgleich die Proben bei dem gleichzeitig durchgeführten Hämagglutinations-Test positiv ausfielen. In dessen waren 4 andere Seren positiv bei der Latex Agglutinations-Methode und negativ bei den Hämagglutinations-Test (also 12 Proben, die überhaupt keine Konkordanz zeigten). (Tabelle 4., Abb. 1.)

Beurteilung:

Die bei dem Versuch des Nachweises von Antikörpern gegen Kuhmilch mittels Latex Agglutinations-Methode erhaltenen Resultate deckten sich weitgehend mit unseren früheren Untersuchungen und den parallel ausgeführten Kontrollen mit dem Hämagglutinationstest bei dem Null-Blutkörperchen als Träger des Antigen verwendet wurden (11, 12,).

Die Ueberlegenheit der Latex Agglutinations-Methode gegenüber der Verwendung von roten Blutkörperchen besteht darin, dass Latex im Handel erhältlich ist, während die Verwendung von Blutkörperchen auch in einem gut ausgerüsteten Laboratorium häufig auf Schwierigkeiten stösst. Was die Empfindlichkeit des Latex-Verfahrens gegenüber dem Hämagglutinations-Test anbetrifft, so sind praktisch keine eindeutigen Unterschiede in dieser Hinsicht bei den beiden Methoden zu verzeichnen.

Tabelle 1

Autor/ZS	Latex LatexstammLösung	Preparation	Versuchsanordnung
"The Latex Fixation Test, Application to the Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis." SINGER, J. M., PLOTZ, C. M. Am. J. Med. 21: 888, 1956.	Polystyren-Latex-Partikel-Suspension (uniforme Partikel-Größe von 0, 81 micron, 11% festes Material in Wasserlösung) wurde auf 1:10 mit Aqua. dest. verdünnt und durch Whatmansche Filterpapier No. 40 filtriert. Das Filtrat sollte dicht genug sein, um bei weiterer Verdünnung auf 1:100 mit Boratpuffer eine Licht-Transmission von 6% im Spektrophotometer beim 650 mμ mit rotem Filter anzuzeigen.	<u>Boratpuffer</u>: - pH 8,2 Menschliches Gamma-Globulin: lyophilisierte Fraktion II, 0, 5%iger Lösung in Boratpuffer. <u>Latex-gamma-Globulin Komplex</u>: 0, 1 ml Latex-Stamm-Lösung wurde mit 0, 5 ml 0, 5%iger gamma-Globulin-Lösung bzw. 9, 4 ml Boratpuffer versetzt.	9 Röhrchen mit fallenden-Serum-Verdünnungen von 1:20 bis 1:5120, (das erste Röhrchen enthält 0, 1 ml Serum und 1, 9 ml Boratpuffer) wurden je mit 1 ml Latex-gamma-Globulin Komplex beschickt, intensiv geschüttelt und in Wasserbad bei 56°C. 2 Stunden inkubiert. Anschliessend wurden die Röhrchen 3 min. beim 2300 U. p. M. zentrifugiert und die Resultate mit blossem Auge abgelesen. Die sichtbaren Agglutinationen wurden entsprechend der Stärke mit ++, +++, +++++, bezeichnet. Eine Agglutination in der Verdünnung von 1:20 oder mehr wurde als positiv bewertet.
"Agglutination Test for C-reactive protein (and comparison with the capillary precipitin method)." SINGER, J. M., PLOTZ, C. M. and ELSTER, S. K. Am J. Clin. Path. 28: 611, 1957.	2 ml Latex Partikel-Suspension (gleichmässige Partikel-Größe von 0, 81 micron Durchmesser, 11% festes Material im Suspension) werden mit 20 ml Aqua. dest. verdünnt und durch Whatmansches Filterpapier No. 40 filtriert. Das Filtrat soll genügend Dichte haben um bei weiterer Verdünnung auf 1:100 mit 0, 85%iger NaCl Lösung eine Licht-Transmission von 5% im Spektrophotometer beim 650 mμ anzuzeigen.	<u>Verdünnungslösung</u>: 0, 85%iger NaCl Lösung. Antigen: Kaninchen Antiserum für C-reactive Protein. <u>Latex-Antigen Komplex</u>: Mischung von 10 ml 0, 85%iger NaCl Lösung mit 0, 1 ml Latex-StammLösung und 0, 05 bis 0, 1 ml Antigen. (Kaninchen Antiserum für C-reactive Protein 5000 bis 10000 micro-gr. per ml).	Serum-Verdünnungsreihe wird hergestellt als 2-fach fortschreitende Verdünnungen, mit physiologischer Kochsalzlösung, von 1:10 bis 1:5120 so dass je Antigen Röhrchen mit 0, 5 ml Latex-Antigen Mischung beschickt und nach Schütteln 90 min. bei 56°C. inkubiert wird. Die Versuchsanordnung wird in der Weise ausgeführt, dass mit 0, 1 ml (oder mehr) Antigen per 10 ml physiologische Kochsalzlösung versetzt wird, so werden die Röhrchen anschliessend 3 min. beim 2300 U. p. M. zentrifugiert und dann makroskopisch abgelesen. Falls indessen weniger als 0, 1 ml Antigen zur Verwendung kommt, werden die Röhrchen nach der Leberbeton 18 Stunden

"A Histoplasmin Latex Agglutination Test." CARLISLE, H.N., LASLAW, S.A. J. Lab. Clin. Med. 51: 793, 1958	Suspension von Polystyren Latex Partikeln, die 27,6% festes Material enthält, (gleichmässige Partikel- Grösse um 1μ, Durch- messer) wurde ungefähr auf 1 : 16 mit Aqua. dest. verdünnt um durch weite- res Verdünnen auf 1 : 100 eine optische Dichte zu haben, die 12% Licht- Transmission im Leit- Rucy Photometer beim 535 mμ anzeigt.	Antigen: Histoplas- min Capsulatum G-13, und kommerziell Skin-Test, Histoplas- min (Lilly), mit phy- siologischer Koch- salzlösung auf 1:300 und 1:50 entsprechen- den Verdünnungen. <u>Latex-Antigen Kom- plex:</u> 0,5 ml Histoplasmin mit 0,1 ml Latex- Stammlösung und 9,4 ml physiologi- scher Kochsalzlö- sung.	Das bei 56° C. während 30 min. inaktivierte Serum wurde in eine Dilutionsreihe mit physio- logischer Kochsalzlösung ver- dünnt. In alle Röhrchen wurde weiter 0,5 ml Latex-Antigen Komplex zugegeben und nach gutem Mischen bei Zimmer- Temperatur 2 Stunden gelas- sen; anschliessend wurden die Röhrchen 5 min. bei 2000 U. p. M. zentrifugiert. Agglutination wurde als '++++' betrachtet wenn die aggluti- nierten Partikel eine Grösse von 1-2 mm gehabt haben.
"Latex Agglutination Test for Dissemina- ted Lupus Erythema- tosis". CHRISTIAN, C.I., BRYAN, R.M., and LARSON, D.L. Proc. Soc. Exper. Biol. et Med. 98: 820, 1958.	Suspension von Polysty- ren Latex Partikeln (gleichmässige Partikel- Grösse von 0,81μ, Durchmesser) wurde her- gestellt wie es von SIN- GER und PLOFZ be- schrieben worden ist. (siehe No. 1 dieser Ta- belle).	Glycine - NaOH-puf- fer pH 8,2, diente als Verdünnungsmittel aller Test-Materi- alien. Antigen: Kalbs-Thy- mus nukleoprotein mit 1 Mol NaCl wur- de von einem Kalbs- Thymuskörper ex- trahiert; als Stamm- lösung lag es als 1 Mol NaCl vor, wur- de aber für die wei- tere Versuchsanord- nung isotonisch ge- macht bei weiterer Verdünnung mit Aqua. dest. auf 1:6,9.	Serum-Verdünnungsreihe wur- de hergestellt, wobei 1 ml Puf- ferlösung fortschreitend dilu- tiert wurde. In jedes Röhr- chen wurde 1 ml Latex-Nukleo- protein zugegeben, nach inten- sivem Schütteln wurden die Röhrchen 1 Stunde lang bei 37° C. inkubiert und dann 10 min. bei 2000 U. p. M. zentri- fugiert. Agglutination wurde makrosko- pisch beurteilt. Anschliessend wurden die Röhrchen bei 37° C. über Nacht inkubiert und wie- der wie oben zentrifugiert und beurteilt. Agglutination in Verdünnung von 1:4 oder mehr wurde nach wiederholtem Zentrifugieren als positiv bezeichnet.
"Latex Leptospiral Agglutination Test." MURASCHI, T.F., Proc. Soc. Esper. Biol. Med. 99: 235, 1958.	Polystyren-Latex-Par- tikeln Suspension (gleichmässige Partikel- Grösse von 0,81μ, 11% festes Material in Was- serlösung) wurde mit Aqua. dest. auf 1:10 verdünnt und durch What- man'sche Filterpapier No. 40 filtriert. Das Fil- trat sollte dicht genug sein, um bei weiterer Verdünnung auf 1:100 mit Glycin-NaOH-puffer, eine optische Dichte von 0,25-0,01 bei Wellenlän- ge von 650 mμ anzuzeigen. Die optische Messung wurde in einer 12 x 75 mm Cuvette durchgeführt mit einem Coleman Jr. Spek- trophotometer 6A mit "adaptor" 6. 106.	Antigen: Leptospiri- ren-Suspension wur- de von einer 7 Tage alten Kultur vorbe- reitet; Die Organis- men wurden mit For- malin getötet und zentrifugiert (20 min. bei 13000 G.), dann zwei mal in formali- nisierter (0,5%) 0,85%iger NaCl-Lö- sung gewaschen und resuspendiert und homogenisiert und wieder 3 min. bei 125 G. zentrifugiert; Die überstehende Flüssigkeit wurde mit formalinierter 0,85%iger Kochsalz- lösung geeicht, so dass sie eine opti- sche Dichte von 0,60-0,01 beim 420 mμ anzeigte.	Die Leptospiren-Latex Mischung wurde gegen menschliches Anti- Serum geprüft. Serum-Dilutionsreihe, in Glykokol- Pufferlösung, verdünnt wurde hergest. wobei 1 ml verdünntes Serum mit 1 ml Latex-Leptospiren Komplex in 12 x 75 mm Röhrchen zusam- men gebracht wurden, welche man geschlossen hielt und 90 min. bei 56° C. inkubiert; nach Wie- dereröffnung des Röhrchens wur- den sie 3 min. beim 1000 G zen- trifugiert. Agglutinationsstärke wurde mit '+', '++', '+++', '++++' und '+++++' bezeichnet.

"Latex Agglutination Test for Trichinosis. INNELLA, F., RENDLER, W.J., J. A. M. A. 171: 885, 1959.	Suspension von Polystyrenen Latex Partikeln (gleichmässige Partikel-Grösse von 0,81μ Durchmesser) wurde hergestellt wie es von SIN-GER und PLOTZ beschrieben worden ist. (Siehe No. 1 in dieser Tabelle).	Pufferlösung: Glycin-NaOH-puffer pH 8,2 diente als Verdünnungsmittel aller Test-Materialien, Trichinella Extrakt (Trichina): wurde nach Bozicevich'schem Verfahren vorbereitet. Latex-Trichinella-Extrakt Komplex: 1 ml Trichinella-Extrakt wurde mit 4,0 ml Pufferlösung und 0,2 ml Latex-Stammlösung versetzt.	Der Test wurde in 8,5 x 75 mm Röhren durchgeführt. Serumdilutionsreihe wurde hergestellt wobei jedes Röhren 0,1 ml verdünntes Serum enthielt; alle Röhren wurden mit je 0,1 ml Latex-Trichinella-Extrakt besetzt und vermischt, anschliessend wurden die Röhren 30 min. bei 37°C inkubiert, dann bei Zimmertemperatur abgekühlt und bei 2000 U. p. M. 3 min. zentrifugiert. Die sichtbare Agglutinationen (Bodensatz) wurden entsprechend der Stärke und der Klarheit des Mediums mit '+', '++', '+++ und '++++' bezeichnet. Ein negativer Test war trüb und zeigte keinen Bodensatz.
---	---	---	---

Tabelle 2

No.	Name	Serum Datum	Hämagglutination Resultat	Datum	Latex-Agglutination Resultat	Datum
1.	Bruz.	15.6.62	negativ	21.6.62	negativ	31.7.62
2.	Mühl.	15.6.62	1 : 10 1 : 10	26.6.62 3.8.62	negativ fraglich	31.7.62 3.8.62
3.	Lang.	16.6.62	1 : 10 1 : 10	26.6.62 3.8.62	1 : 40 * fraglich	30.7.62 3.8.62
4.	Flau.	15.6.62	1 : 40 * 1 : 20	26.6.62 3.8.62	1 : 20 * 1 : 80	6.8.62 2.8.62
5.	Agua.	18.6.62	fraglich	11.7.62	negativ	31.7.62
6.	Bien.	15.6.62	fraglich negativ	11.7.62 3.8.62	negativ 1 : 20 1 : 40 *	2.7.62 25.7.62 27.7.62
7.	Stol.	18.6.62	negativ	11.7.62	fraglich	25.7.62 27.7.62
8.	Eich.	15.6.62	1 : 5	11.7.62	fraglich	31.7.62
9.	Spen.	15.6.62	1 : 5	11.7.62	fraglich	25.7.62
10.	Sato.	12.6.62	1 : 10	12.7.62	1 : 10 1 : 20 *	25.7.62 26.7.62 27.7.62
11.	Buos.	12.7.62	1 : 10	12.7.62	1 : 40 * 1 : 40 1 : 20 1 : 40	25.7.62 26.7.62 27.7.62 30.7.62
12.	(-)	12.6.62	negativ 1 : 5 *	12.7.62 20.7.62	negativ	13.8.62

No.	Name	Serum Datum	Hämagglutination Resultat	Datum	Latex-Agglutination Resultat	Datum
13.	Alpa.	12.7.62	negativ	12.7.62	negativ	24.7.62
14.	Hero.	12.6.62	1 : 40 *	12.7.62	1 : 40 * 1 : 40 1 : 20 1 : 40	24.7.62 26.7.62 27.7.62 30.7.62
15.	Heit.	6.6.62	1 : 10	12.7.62	1 : 20	25.7.62
16.	Spyo.	12.6.62	1 : 10	12.7.62	fraglich	31.7.62
17.	Witt.	6.6.62	1 : 10	12.7.62	negativ	31.7.62
18.	Diel.	13.6.62	1 : 20	12.7.62	fraglich	31.7.62
19.	Kinz.	15.6.62	fraglich	17.7.62	negativ	13.8.62
20.	Saus.	20.6.62	negativ	(-)	1 : 5 * fraglich	7.8.62 8.8.62
21.	Thom.	12.7.62	1 : 5	20.7.62	1 : 5 1 : 5	7.8.62 8.8.62
22.	Fode.	20.6.62	1 : 5	20.7.62	negativ	13.8.62
23.	Land.	15.6.62	negativ	20.7.62	1 : 5 1 : 5	7.8.62 8.8.62
24.	Kann.	12.7.62	1 : 160	3.8.62	1 : 160* 1 : 80	2.8.62 14.8.62
25.	Sute.	24.6.62			1 : 5 * negativ	7.8.62 8.8.62
26.	Gutz.	20.6.62			1 : 20	9.8.62
27.	Otte.	20.6.62			fraglich	9.8.62
28.	Graf.	5.7.62	fraglich	11.9.62	fraglich	9.8.62
29.	Schm.	17.6.62			1 : 5	9.8.62

Tabelle 2. Fortsetzung

No.	Name	Serum Datum	Hämagglutination Resultat Datum	Latex-Agglutination Resultat Datum
30.	Schw.	20.6.62		negativ 9.8.62
31.	Camp.	16.7.62		negativ 14.8.62
32.	Cara.	12.7.62		negativ (-)
33.	Kiss.	10.7.62		negativ 15.8.62
34.	Ball.	10.7.62		negativ 15.8.62
35.	Redu.	10.5.62	1 : 10	29.8.62 1 : 10 20.8.62
36.	Müll.	11.5.62	fraglich	29.8.62 1 : 20 20.8.62
37.	Spir.	10.5.62	1 : 5	11.9.62 1 : 10 20.8.62
38.	Drec.	12.5.62	1 : 10	11.9.62 1 : 10 20.8.62 1 : 10 12.9.62 1 : 20* 13.9.62
39.	Brun.	11.5.62		1 : 10 21.8.62
40.	Oall.	12.5.62		fraglich 21.8.62
41.	Oegg.	12.5.62	1 : 5	11.9.62 1 : 5 21.8.62
42.	Must.	8.5.62	1 : 10	29.8.62 1 : 10 21.8.62
43.	Whol.	7.5.62	1 : 20	29.8.62 1 : 40* 22.8.62 1 : 20 17.9.62 1 : 10 18.9.62 1 : 5 20.9.62
44.	Loos.	10.5.62	1 : 10 1 : 5	29.8.62 1 : 5 22.8.62 11.9.62
45.	Sime.	8.5.62	1 : 10	29.8.62 1 : 20 22.8.62
46.	Tino.	9.5.62		fraglich 22.8.62
47.	Brud.	11.5.62		negativ 27.8.62
48.	Lien.	3.5.62	negativ 1 : 5	29.8.62 negativ 27.8.62 11.9.62

No.	Name	Serum Datum	Hämagglutination Resultat Datum	Latex-Agglutination Resultat Datum
49.	Kunz.	8.5.62	1 : 20	11.9.62 1 : 5 27.8.62
50.	Cero.	8.5.62	1 : 10	29.8.62 1 : 5 27.8.62
51.	Morg.	3.5.62		negativ 27.8.62
52.	Nebe.	3.5.62		fraglich 12.9.62
53.	Vohd.	3.5.62		negativ 12.9.62
54.	Bajm.	9.5.62		negativ 20.9.62
55.	Scha.	9.5.62		negativ 12.9.62
56.	Wich.	3.5.62		negativ 12.9.62
57.	Hoch.	8.5.62		1 : 10 12.9.62
58.	Pötn.	3.8.62		negativ 12.9.62
59.	Cile.	6.5.62		fraglich 12.9.62
60.	Hole.	6.9.62		1 : 10 13.9.62
61.	Ruti.	2.5.62		1 : 10 19.9.62
62.	Meye.	17.8.62		1 : 10* 13.9.62 1 : 5 20.9.62
63.	Me.O.	2.8.62		1 : 10 13.9.62 1 : 10 20.9.62
64.	Show.	23.6.62		1 : 5 13.9.62
65.	Wyas.	18.7.62		1 : 10 13.9.62 1 : 10 20.9.62
66.	Grod.	26.6.62		1 : 20 13.9.62
67.	Kamm.	29.6.62		fraglich 13.9.62
68.	Tsch.	9.5.62		1 : 5 17.9.62

Tabelle 2, Fortsetzung

No.	Name	Serum Datum	Hämagglutination Resultat Datum	Latex-Agglutination Resultat Datum
69.	Miel.	10.5.62		negativ 17.9.62
70.	Pane.	9.5.62		negativ 17.9.62
71.	Vige.	3.5.62		negativ 17.9.62
72.	Ried.	4.5.62		1 : 10 17.9.62
73.	Cron.	10.5.62		1 : 20 17.9.62
74.	Rove.	10.5.62		fraglich 17.9.62
75.	Künz.	18.7.62		fraglich 18.9.62
76.	Dome.	16.7.62		1 : 10 18.9.62
77.	Imme.	16.7.62		1 : 5 18.9.62
78.	Mora.	20.7.62		1 : 5 18.9.62
79.	Schw.	14.7.62		1 : 5 18.9.62
80.	Grei.	18.7.62		1 : 5 18.9.62
81.	Räts.	18.7.62		negativ 18.9.62
82.	Gass.	17.7.62		1 : 5 18.9.62
83.	Casa.	10.9.62		1 : 10 20.9.62
84.	Dent.	14.9.62		fraglich 20.9.62
85.	Hole.	6.9.62		1 : 5 20.9.62
86.	Real.	19.7.62		1 : 10 20.9.62
87.	Biet.	19.6.62	1 : 5 17.7.62	negativ 15.8.62

Tabelle 3, Versuchsanordnung:

Röhrchen No.		A	B	C
Röhrchen 1	1 :	5	4 Tropfen Antigen-Latex Komplex	
Röhrchen 2	1 :	10		
Röhrchen 3	1 :	20		
Röhrchen 4	1 :	40		
Röhrchen 5	1 :	80		
Röhrchen 6	1 :	160		
Röhrchen 7	1 :	320		
Röhrchen 8	1 :	640		
Röhrchen 9	1 :	1280		
Serum-Kon- trollröhrchen	1 :	5		4 Trp. Latex Stammlösung
Antigen-Kon- trollröhrchen 1	4 Trp. Latex-Stamm- lsg. 1:200 verdünnt		4 Trp. Antigen- Latex-Komplex	
Antigen-Kon- trollröhrchen 2	4 Trp. Borat-Puffer- lösung			4 Trp. Latex- Stammlösung

D. 30 min. lang in einem Wasserbad von 37° C.

E. 2 Stunden im Kühlschrank bei +4° C.

F. 30 min. im Wasserbad bei 56° C.

G. über Nacht im Brutschrank bei 37° C.

H. 3 min. bei 2500 U. p. M. zentrifugieren

I. Agglutination Beurteilung (mit Hilfe des Agglutinoskopes).

Siehe Abb. 1.

Tabelle 4.

	Anzahl Resultate mit	
	LAT*	HAT*
Gesamt-Zahl der auf Antikörper gegen Kuhmilch untersuchten Seren	87	39
Anzahl positiver Resultate	46	27
Positive Resultate bei folgenden Verdünnungen:		
** 1 : 160	1**	1**
*** 1 : 80	1	0
**** 1 : 40	5	2
***** 1 : 20	8	3
1 : 10	14	12
1 : 5	17	8
Negative Resultate	26	8
(Fragliche Resultate)	15	4
	41	12

* Latex-Agglutinations-Test

Hämagglutination-Test

** Fall No. 24 (Kamnischer)

*** Fall No. 4 (Plau.), die entsprechenden HAT Resultate lagen bei 1 : 40 (26. 6. 62) und 1 : 20 (3. 8. 62).

**** Fälle No. 3, 6, 11, 14, 43, die entsprechenden HAT Resultate waren 1:10, neg., 1:10, 1:40, 1:20.

***** Fälle No. 10, 15, 26, 36, 38, 45, 66, 73, die HAT Resultate ergaben entsprechend: 1:10, 1:10, (-), frag., 1:10, 1:10, (-), (-).

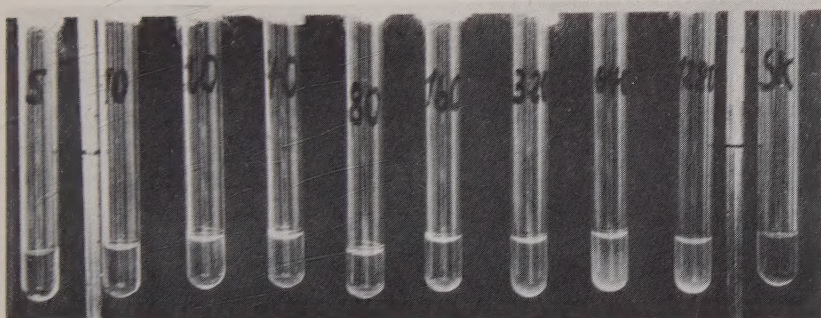
Abb. 1

Serum-Probe No 24. (Kamn.)

Röhrchen No. 6 (Serum-Dilution 1:160)

zeigt eindeutig klare Flüssigkeit über einem eindeutigen
weissen Niederschlag.

Die photographische Reproduktion der Serumkontrolle illu-
striert die zu erwartende Trübung nicht deutlich genug.



1. SINGER, J. M. und PLOTZ, C. M. "The Latex fixation test I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis". Am. J. Med., 21: 888, 1956.
2. SINGER, J. M. und ORESKES, I. "The mechanism of particulate carrier reactions. I. Adsorption of human gamma globulin to polystyrene latex particles." J. Immunol. 86: 338, 1961.
3. SINGER, J. M., ALTMANN, G., GOLDENBERG, A. und PLOTZ, C. M. "The mechanism of particulate carrier reaction with rheumatoid sera. Sensitizing capacity of various human gamma globulins for latex particles." Arthritis and Rheumat., 3: 515, 1960.
4. SINGER, J. M. "The Latex Fixation Test in Rheumatic Diseases, a review". Am. J. Med., 31: 766 Nov. 1961.
5. HEDGERG, H., "Studies on latex fixation test". Acta rheumat. scandinav., 4: 257, 1958.
6. DRESSNER, E. and TROMBLY, P., "The latex-fixation reaction in non-rheumatic disease." New England J. Med., 261: 981, 1959.
7. MORGAN, G. "Comparative study of the hemmagglutination test and a simple latex fixation test for the detection of theumatoid factor." Ann. Rheumat. Dis., 18: 322, 1959.
8. AMIRA, A., VISCONTI, A. "Comparative evaluation of the latex reaction and hemmagglutination test in the serological study of 659 cases of diseases of various etiology." Reumatismo, 11: 315, 1959.
9. HOLLEY, H. L. und Mitarb. "A comparison of the latex fixation whole serum, latex fixation euglobulin fraction and bentonit flocculation tests in the laboratory diagnosis of rheumatoid arthritis." Am. J. Med. Scien., 237: 345 (March) 1959.
10. BADER, R. E., "Die Latex-Geissel-Agglutination. ZS für Hygiene - Tübingen 1964 150, 199 - 210.
11. BERGER, E. und BAUER, R. C., Med. exp. 1, 37 (1959).
12. BUERGIN-WOLFF, A. und BERGER E. "Die Bildung von Antikörpern gegen verschiedene Kuhmilch-Proteine bei Neugeborenen, Kindern, Erwachsenen und Graviden." Exper. Vol. XIX, 1. 22, 1963.

